

Uji aktivitas ekstrak daun sendok (*Plantago major* L) dalam menghambat reaksi anafilaksis yang diperantarai sel mast

Inhibitory effects of daun sendok (*Plantago major* L.) on mast cell-mediated anaphylactic reaction

Agung Endro Nugroho, Erna Prawita Setyowati dan Zullies Ikawati

Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM

Abstrak

Pada era modern ini, reaksi hipersensitisasi atau lebih dikenal alergi banyak diderita oleh masyarakat. Faktor penentu meningkatnya kecenderungan itu adalah meningkatnya paparan alergen dan berkurangnya stimulasi sistem imun pada masa kritis perkembangan. Di lain pihak, pengembangan tanaman obat sebagai anti-alergi terus berkembang diantaranya adalah *Plantago major* L. Penelitian terdahulu mengindikasikan bahwa secara *in vitro* ekstrak tanaman tersebut dapat menghambat pelepasan histamin dari kultur sel Rat Basophilic Leukemia (RBL-2H3) yang diinduksi DNP-BSA. Pada percobaan ini akan diteliti secara *in vivo* yaitu efek *P. major* L. terhadap reaksi anafilaksis sistemik diinduksi compound 48/80

Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit galur Balb/c dengan umur 2-3 bulan dan berat 20-30 gram, yang dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu (1) uji ekstrak etanol terhadap reaksi anafilaksis sistemik dan (2) uji ekstrak n-heksana terhadap reaksi anafilaksis sistemik. Tiap kelompok besar dibagi menjadi 5 sub-kelompok berdasarkan dosis ekstrak *P. major* yang diberikan yaitu 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; 1000,0 mg/kg BB. Compound 48/80 dosis 8 mg/kg BB, suatu induktor pelepas histamin, diberikan satu jam setelah perlakuan ekstrak *P. major*, dan selama satu jam dihitung jumlah hewan uji yang mati. Parameter farmakologi yang digunakan adalah harga ED₅₀ yang dihitung menggunakan analisa probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik ekstrak etanol maupun n-heksana dapat menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi compound 48/80 dengan harga ED₅₀ masing-masing sebesar 1,66 dan 55,01 mg/kg BB. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak etanol *Plantago major* L. mempunyai potensi yang lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksana.

Kata kunci : *Plantago major* L., anafilaksis, histamin dan sel mast

Abstract

Hypersensitisation reaction, which is known as an allergy, is suffered by a lot of people in the modern society. An increase of allergen uptake and the decrease of immune system are considered to be the major factors, which influence the disease. Development of medicinal plants for the allergic reaction is continuing with the extract of *Plantago major* as an example. This extract could inhibit histamine release from cell culture of Rat Basophilic Leukaemia (RBL-2H3) induced by DNP-BSA *in vitro*. This study determined the effect of *Plantago major* L. on systemic anaphylactic reaction induced by compound 48/80 *in vivo*.

The research was conducted using Balb/c mice (2-3 months, 20-30 gram) which were divided into 2 main groups i.e. (1) those which were given

with etanol extract on systemic anaphylactic reaction, and (2) those which were given with n-hexane extract on systemic anaphylactic reaction. Each group was divided into five sub-groups based on various dosages of *Plantago major* extract i.e. 0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 1000.0 mg/kg BW. Compound 48/80, a histamine release inductor, was administered at dose of 8 mg/kg BW, an hour after *Plantago major* administration, and the total of death mice were observed for an hour. Pharmacological parameter, ED50 value, was determined using probit analysis.

The result showed that both etanol and n-hexane extracts of *Plantago major* L could inhibit systemic anaphylactic reaction induced by compound 48/80 with ED50 values of 1.66 and 55.01 mg/kg BW, respectively. It can be concluded that the potency of etanol extract of *Plantago major* L is higher than its n-hexane extract.

Key words: *Plantago major* L., anaphylactic, histamine and mast cells

Pendahuluan

Reaksi hipersensitivitas atau lebih dikenal sebagai penyakit alergi, seperti asma, rinitis, eksim, alergi makanan, dan lain-lain, telah mencapai proporsi yang seimbang antara negara maju dan berkembang. Faktor penentu meningkatnya kecenderungan itu adalah meningkatnya paparan alergen dan berkurangnya stimulasi sistem imun pada masa kritis perkembangan. Di negara maju seperti Inggris dan Australia, 1 dari 4 anak berusia di bawah 14 tahun menderita asma, dan 1 dari 5 anak memiliki eksim (Beasley *cit* Holgate, 1999). Pada kondisi ekstrim, reaksi syok anafilaksis dan asma dapat mengancam kehidupan, walaupun penyakit alergi umumnya bukan penyakit berbahaya, namun penyakit ini termasuk kondisi kronis yang menyebabkan tekanan dan kesengsaraan bagi penderitanya, mengganggu kenyamanan, dan mengurangi kualitas kesehatan seseorang.

Obat-obat anti alergi yang beredar saat ini umumnya adalah golongan anti histamin H1, baik generasi pertama yang masih berefek sedatif, maupun generasi kedua yang sudah tidak memiliki efek sedatif. Histamin sendiri adalah mediator vasoaktif yang disintesis, disimpan, dan dilepaskan oleh sel mast ketika sel tersebut terstimulasi oleh suatu picu, baik imunologis maupun non-imunologis (Morrison *cit* Koibuchi *et al.*, 1985). Karena itu, suatu senyawa yang berefek langsung terhadap sel mast dengan mencegah degranulasinya, yang pada gilirannya mencegah pelepasan histamin dan mediator lainnya, dapat diharapkan menjadi obat anti alergi spesifik yang lebih poten dengan jangkauan aksi yang lebih luas. Obat semacam itu yang telah beredar di pasaran

adalah golongan kromon, yaitu sodium kromoglikat dan nedokromil. Kuersetin yang merupakan aglikon dari flavonoid rutin dan dapat diisolasi dari berbagai tanaman obat, juga mempunyai aksi menstabilisasi sel mast (Ikawati *et al.*, 2001). Penemuan senyawa baru dari tanaman obat yang berefek menstabilisasi sel mast merupakan upaya yang prospektif secara potensial.

Metodologi

Bahan

Bahan penelitian hasil fraksinasi dari ekstrak daun sendok (*Plantago major* L) diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu Karanganyar Jawa Tengah. Bahan kimia yang digunakan adalah n-heksana dan etanol (E. Merck, Germany), compound 48/80 sebagai induktor reaksi anafilaksis (Sigma Chemical), rutin sebagai kontrol positif (Sigma Chemical). Hewan uji yang digunakan adalah mencit galur *Balb/c* usia 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram diperoleh dari Lab. Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM.

Prosedur Pelaksanaan

Fraksinasi ekstrak dengan etanol dan n-heksana, dilanjutkan dengan uji bioassay yaitu uji aktivitas fraksi sampel dalam menghambat reaksi anafilaksis sistemik pada mencit yang diinduksi dengan compound 48/80 (Kim *et al.*, 1999).

Pada uji bioassay (penghambatan reaksi anafilaksis), setiap fraksi sampel diuji aktivitasnya dalam menghambat reaksi anafilaksis sistemik. Mencit dibagi dalam tujuh kelompok masing-masing terdiri atas 10 mencit, dan diberi larutan senyawa uji sebanyak 1,0 ml secara injeksi intraperitoneal dengan variasi dosis yaitu 0.1, 1, 10, 100 dan 1000 mg/kg BB, dengan satu kelompok sebagai kontrol negatif, dan satu kelompok sebagai kontrol positif dengan rutin (flavonoid dengan kuersetin sebagai

aglikonnya) konsentrasi 1000 mg/kg BB (Ikawati dkk., 2001). Satu jam kemudian, subyek uji tersebut diberi injeksi compound 48/80 dengan dosis 8 mg/kg BB secara intraperitoneal. Selanjutnya diamati kejadian syok anafilaktik pada setiap kelompok dan dihitung % mortalitasnya. Kemampuan sampel untuk menghambat terjadinya syok anafilaksis dinyatakan sebagai aktivitas anti anafilaktik sampel.

Parameter keberkhasiatan yang digunakan adalah harga ED_{50} -nya, dianalisis menggunakan analisis probit dengan bantuan piranti lunak *SPSS for windows*.

Hasil Dan Pembahasan

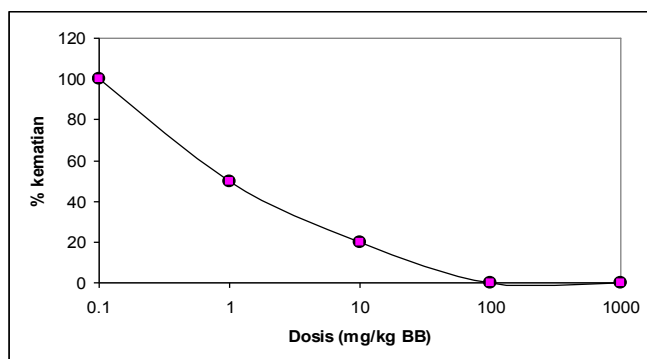
Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi ekstrak daun sendok (*Plantago major L.*) dalam menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diperantarai oleh sel mast. Reaksi anafilaksis tersebut dapat terjadi secara cepat (dalam hitungan menit), dapat disebabkan oleh degranulasi sel mast juga dapat dipicu secara

non-imunologi oleh suatu senyawa misalnya compound 48/80, yang merupakan senyawa hasil kondensasi N-metil-*p*-metoksi feniletilamin dengan formaldehida (Baltzly cit Koibuchi dkk., 1985). Dalam penelitian ini, digunakan senyawa tersebut dalam merangsang reaksi anafilaksis sistemik, dan sebagai bahan yang diujukan untuk menghambat reaksi anafilaksis sistemik adalah ekstrak etanol dan n-heksana daun sendok (*Plantago major L.*). Berikut ini akan disajikan satu per satu pengaruh kedua ekstrak terhadap reaksi anafilaksis sistemik yang diperantarai oleh sel mast. Hasil percobaan untuk ekstrak etanol disajikan pada tabel I dan gambar 1.

Dari tabel I dan gambar 1 nampak bahwa perlakuan rutin 1000 mg/kg BB (kontrol positif) dan perlakuan ekstrak etanol daun sendok (*Plantago major L.*) dapat menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diperantarai oleh sel mast, meskipun pada pemberian

Tabel I. Efek ekstrak etanol *P. major* terhadap prosentasi kematian akibat syok anafilaksis yang diinduksi oleh compound 48/80 dengan dosis 8 mg/kg BB

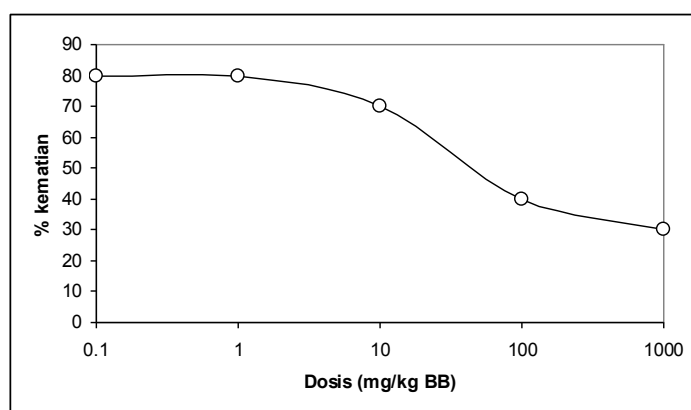
Dosis <i>P. major</i> (mg/kg BB)	Jumlah subjek	Jumlah mati	Prosentase kematian
1000	10	0	0
100	10	0	0
10	10	2	20
1	10	5	50
0.1	10	10	100
Kontrol negatif	10	10	100
Rutin 1000 mg/kg BB (kontrol positif)	10	0	0



Gambar 1. Kurva hubungan dosis ekstrak etanol (mg/kg BB) terhadap prosentase kematian diinduksi compound 48/80.

Tabel II. Efek ekstrak n-heksana *P. major* terhadap prosentasi kematian akibat syok anafilaksis yang diinduksi oleh compound 48/80 dengan dosis 8 mg/kg BB

Dosis (mg/kg BB)	Jumlah subjek	Jumlah mati	Prosentase kematian
1000	10	3	30
100	10	4	40
10	10	7	70
1	10	8	80
0.1	10	8	80
Kontrol negatif	10	10	100
Rutin 1000 mg/kg BB (kontrol positif)	10	0	0



Gambar 2. Kurva hubungan dosis ekstrak n-heksana (mg/kg BB) terhadap prosentase kematian diinduksi *compound 48/80*.

ekstrak etanol daun sendok dosis 0,1 mg/kg BB (dosis terendah) tidak menghambat reaksi anafilaksis tersebut. Pemberian dosis ekstrak etanol daun sendok dosis 1,0; 10,0; 100,0 dan 1000,0 mg/kg BB dapat mengurangi jumlah kematian subjek uji yang diinduksi oleh *compound 48/80* (sebagai respon akibat reaksi anafilaksis sistemik) sebesar berturut-turut 50, 80, 100 dan 100 %. Dari hasil tersebut, efek maksimum ekstrak etanol daun sendok diperoleh setelah pemberian pada dosis 100,0 mg/kg BB, dan kenaikan dosis dapat meningkatkan efek penghambatan reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi oleh *compound 48/80* sehingga dapat dihitung harga ED_{50} -nya.

Selain diuji efek penghambatan reaksi anafilaksis dari ekstrak etanol (bersifat relatif polar), juga diuji efek dari ekstrak n-heksana (bersifat non-polar). Hasil percobaan untuk ekstrak n-heksana disajikan pada tabel II dan gambar 2.

Nampak pada tabel I dan gambar 1 perlakuan ekstrak n-heksana daun sendok (*Plantago major L.*) juga mampu menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diperantarai oleh sel mast. Pemberian semua dosis perlakuan ekstrak etanol daun sendok yaitu 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 dan 1000,0 mg/kg BB dapat mengurangi jumlah kematian subjek uji (sebagai respon akibat reaksi anafilaksis sistemik) sebesar berturut-turut 20, 20, 30, 60 dan 70 %. Dari hasil tersebut, dosis paling efektif dalam menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi oleh *compound 48/80* adalah 1000,0 mg/kg BB. Kenaikan dosis ekstrak n-heksana daun sendok (*Plantago major L.*) dapat meningkatkan efek penghambatan reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi oleh *compound 48/80* sehingga dapat dihitung harga ED_{50} -nya.

Dari hasil uji terhadap kedua ekstrak tersebut dihitung ED_{50} -nya dengan

Tabel III. Harga ED₅₀ ekstrak etanol dan n-heksana daun sendok (*P. major* L.)

Ekstrak <i>Plantago major</i> L.	Harga ED ₅₀
Etanol	1,66 mg/kg BB
n-heksana	55,01 mg/kg BB

menggunakan analisis probit. Harga ED₅₀ merupakan dosis ekstrak daun sendok yang dapat menunjukkan efek penghambatan kematian hewan uji yang diinduksi compound 48/80 yaitu sebesar 50 % efek maksimumnya. Hasil perhitungan harga ED₅₀ dari kedua ekstrak disajikan pada tabel III.

Dari hasil tersebut maka dapat diambil kesimpulan bahwa harga ED₅₀ ekstrak etanol lebih rendah dibandingkan ekstrak n-heksana, berarti bahwa untuk menghasilkan efek sebesar 50 % efek maksimum hanya dibutuhkan ekstrak etanol dengan dosis 1,66 mg/kg BB, lebih rendah dibandingkan ekstrak n-heksana yang membutuhkan dosis 55,01 mg/kg BB. Kenyataan ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol mempunyai potensi yang lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksana dalam menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi compound 48/80.

Pada percobaan ini menggunakan kontrol positif rutin, suatu flavonoid dengan kuersetin sebagai aglikonnya. Digunakan rutin sebagai kontrol positif mempertimbangkan pada percobaan *in vitro*, Ikawati dkk. (2001) juga menggunakan kontrol positif berupa kuersetin (aglikon dari flavonoid rutin) dalam meneliti pengaruh ekstrak etanol dan n-heksana *Plantago major* L. terhadap pelepasan histamin dari kultur sel RBL-2H3 yang diinduksi DNP-BSA. Pada percobaan ini, pemberian flavonoid rutin dosis 1000 mg/kg BB dapat menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi compound 48/80 pada 100 % hewan percobaan.

Hasil penelitian di atas merupakan suatu percobaan *in vivo* untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak daun sendok terhadap reaksi anafilaksis yang diperantarai oleh sel mast. Hasil penelitian *in vivo* tersebut (ekstrak etanol lebih poten dibandingkan ekstrak n-heksana) seiring dengan hasil penelitian *in vitro* oleh Ikawati dkk. (2001).

Pada tahun 2001, Ikawati dkk melakukan penelitian mengenai efek ekstrak etanol dan n-heksana *Plantago major* L. terhadap pelepasan histamin dari kultur sel RBL-2H3 yang diinduksi DNP-BSA. Penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol dan n-heksana *Plantago major* L. dapat menghambat pelepasan histamin masing-masing sebesar 88,89 dan 22,22 %. Bahkan, potensi ekstrak etanol sama dengan potensi kuersetin konsentrasi 50 μ M (kontrol positif). Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol mempunyai potensi yang lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksana *Plantago major* L. dalam menghambat pelepasan histamin dari kultur sel RBL-2H3 yang diinduksi DNP-BSA.

Dari kedua hasil penelitian tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol mempunyai potensi lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksana *Plantago major* L., selanjutnya untuk tahap II ditetapkan untuk menggunakan ekstrak etanol pada uji aktivitas terhadap reaksi anafilaksis kutaneus pasif pada tikus tersensitisasi yang diinduksi dengan ovalbumin dan uji toksistas akutnya.

Daun sendok (*Plantago major* L.) mengandung beberapa senyawa yang dilaporkan mendukung efek penghambatan reaksi anafilaksis antara lain terpenoid asam ursolat, skutallarein dan baikalein. Samuelsen (2001) melaporkan bahwa asam ursolat, merupakan senyawa terpenoid daun sendok, menunjukkan aktivitas penghambatan pelepasan histamin dari sel mast. Senyawa golongan flavonoid yaitu skutallarein dan baikalein diporkan mempunyai efek antialergi yang diduga terkait dengan penghambatan pelepasan histamin (Kawasaki dkk., 1994; Toyoda dkk., 1997).

Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan n-heksana daun sendok (*Plantago major* L.) dapat menghambat reaksi anafilaksis sistemik yang diinduksi compound 48/80, dengan harga ED₅₀ masing-masing sebesar 1,66 dan 55,01 mg/kg BB. Ekstrak etanol daun sendok mempunyai potensi lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksana daun sendok.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih terhadap Universitas Gadjah Mada yang telah membiayai penelitian ini melalui Anggaran Dana

Masyarakat UGM berdasarkan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor: 2588/P.II/LPN/2003 tanggal 2 Juni 2003.

Daftar Pustaka

- Holgate, S.T., 1999, The epidemic of allergy and asthma, *Nature*, 402, B2
- Ikawati, Z., Wahyuono, S., Maeyama, K., 2001, Screening of several Indonesian medicinal plants for their inhibitory effect on histamine release from RBL-2H3 cells, *J Ethnopharmacol* 75, 249-256
- Kawasaki, M., Toyoda, M., Teshima, R., 1994. In vitro antiallergenic activity of flavonoids in histamine-release assay using rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells, *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 35, 497-503.
- Kim, H.M., Lee, E.H., Jeoung, S.W., Kim, C.Y., Park, S. T., Kim. J.J., 1999, Effect of Korean folk medicine "Chung Dae San" on mast cell-dependent anaphylactic reaction, *J. Ethnopharm*, 64, 45-52
- Koibuchi, Y., Ichikawa, A., Nakagawa, M., Tomita, K., 1985, Histamine release induced from mast cells by active components of compound 48/80, *Eur J Pharmacol* 115, 163-170
- Samuelsen, A. B., 2001, The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. (A review), *Journal of Ethnopharmacology*, 71 : 1-21.
- Toyoda, M., Tanaka, K., Hoshino, K., Akiyama, H., Tanimura, A., Saito, Y., 1997, Profiles of potentially antiallergic flavonoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 : 2561-2564.